

## 미세유체칩을 사용한 혈소판과 내피세포의 결합 및 유리 현상 관찰

송재우, 김현정, 송예진

연세대학교 의과대학 진단검사의학교실

## Observation of Platelet and Endothelial Interaction Using Microfluidic Chip

Jaewoo Song, Hyun-Jung Kim, Ye-Jin Song

Department of Laboratory Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Received: 13 December 2017  
Accepted: 13 December 2017

## \*Corresponding author:

Jaewoo Song, MD, PhD  
Department of Laboratory Medicine,  
Yonsei University College of Medicine,  
50-1 Yonsei-ro, Seodaemun-gu, Seoul  
03722, Korea  
Tel: +82-2-2228-2445  
Fax: +82-2-364-1583  
E-mail: labdx@yuhs.acSource of funding: This work was  
supported by a grant (KSTH 2016-004)  
from the Korean Society on Thrombosis  
and Hemostasis.Copyright © Korean Society on Thrombosis  
and Hemostasis. All rights reserved.

Polydimethylsiloxane (PDMS) microfluidic chip is widely adopted to simulate and model biological phenomena. We fabricated a single straight channeled PDMS microfluidic chip to replace parallel plate flow chamber in observing platelet binding to endothelial surface mediated by ultra-large von Willebrand factor (ULVWF). We cultured endothelial cells in the microfluidic channel and through which perfused buffered platelet suspension. By stimulating the endothelial cells, beads on string structures composed of platelets and ULVWF were observed on endothelial surfaces immediately after perfusing platelet suspension. The appearances were exactly the same as reported by other researchers before with parallel plate flow chambers. The number of strings observed per chip was  $182.9 \pm 59.9$  (mean  $\pm$  SD, 102-305) from 11 chips. The blood volume required for the same results with microfluidic chips was almost a twentieth of that from parallel plate flow chambers. The workloads and time required for procedure were also considerably reduced by replacing flow chambers with microfluidic chips. The beads on string structures on the endothelial surface were promptly cleaved and washed away by perfusing buffer with added plasma. The metalloprotease activity of ADAMTS13 in the plasma was demonstrated by adding EDTA to the plasma which inhibited string cleavage. The microfluidic chip introduced here can substantially facilitate the experiments focusing on the interaction between platelets and endothelial cells.

**Keywords:** Microfluidic chip, Platelet, Endothelial cell, Von Willebrand factor

## 서론

혈소판 지혈 작용은 노출된 혈관 외 조직과 혈소판 간의 결합으로부터 시작한다.<sup>1</sup> 그러므로 폰빌레브란트 인자(von Willebrand factor, VWF)를 매개로 한 혈소판과 결합조직 간의 결합은 출혈 질환의 병태생리에 중요한 의미를 갖는다. VWF 혈소판 결합은 혈전질환에도 기여하는데 대표적인 사례가 VWF 절단 효소인 ADAMTS13의 결핍 또는 기능이상에 의해 발생하는 혈전저혈소판혈증자색반병이다.<sup>2</sup> 이는 혈소판이 내피세포 표면에 VWF를 매개로 하여 반복적 지속적으로 부착되었다가 유리되고 있음을 의미한다. 혈소판과 VWF 간의 결합은 포획 결합(catch bond)의 양상을 보이는데 이는 유속 및 전단응력(shear stress)이 증가함에 따라 결합 친화력이 증가되는 현상을 말한다.<sup>3</sup> 포획결합에 의해 혈류 속도가 빠른 동맥 및 소동맥에서도 혈소판은 VWF를 통해 내피 표면에 안정적으로 부착할 수 있다. 혈소판과 내피세포 간 결합은 급성 혈전 형성 외에도 동맥경화와 같은 만성 염증성 혈관 질환의 진행에도 기여하는 것으로 알려져 있다.<sup>4</sup> 그러므로 혈소판과 내피세포 간 결합 양상을 실험적으로 관찰하는 것은 혈전 및 출혈 질환의 병태생리를 밝히는 데 매우 유용한 연구 기법으로 사용될 수 있다. Dong 등은 내피세포 배양 접시에 유체 챔버(flow chamber)를 밀착시키고 혈소판을 관류시키는 방식으로 내피세포 표면에 혈소판이 부

착되는 형태학적 현상을 보고하였다.<sup>5,6</sup> 흥미로운 점은 혈소판이 주로 활성 내피세포에서 분비되는 초거대 VWF (ultra large VWF, ULVWF) 중합체에 결합하기 때문에 ULVWF와 혈소판의 염주양 선형(bead on string) 복합구조물들이 내피세포 표면에 나타난다는 사실이다. 염주양 선형 구조물을 관찰함으로써 내피 표면의 ULVWF 분포 양상을 관찰할 수도 있다. 염주양 선형 구조물의 골격이 ULVWF이기 때문에 혈장 내 ADAMTS13이나 정제된 ADAMTS13을 흘려주게 되면 VWF가 절단되어 염주양 구조물이 신속히 소실된다. 유체 챔버 실험 기법은 이와 같이 혈소판 내피세포 간 결합을 관찰할 수 있는 유용한 실험 기법으로 사용되어 왔다. 하지만 기존의 유체 챔버 기법의 단점은 실험 조건 간에 번거로운 조작 과정으로 인해 다양한 실험 조건을 적용한 연속된 실험을 진행할 경우 작업 강도가 매우 높아진다는 점이다. 또한 혈소판 내피세포 결합을 관찰하기 위해서는 세척 혈소판 제조를 위해 많은 양의 혈액이 필요한데 실험 대상자 보호와 같은 윤리적 가치가 강조되는 현재의 연구 환경하에서 다양한 실험을 짧은 기간 안에 진행하기에 많은 제약이 따르게 된다. 이를 극복할 수 있는 실험 기법으로 최근 미세유체칩이 소개되어 세포 간, 세포-기질 간 결합을 관찰하는 데에 활용되고 있다. 미세유체칩은, 유체통로와 관의 연결부위를 제외하면 외부로부터 밀폐되어 있고 유체 통과 단면적이 기존의 유체 chamber에 비해 월등히 적기 때문에 소량의 시료로 다양한 조건의 실험

을 쉽게 진행할 수 있는 장점이 있다. 하지만 플라스틱 재질의 상품화된 일회용 미세유체칩은 매우 고가인 관계로 일반적 연구자들 실험 기법으로 채택하기에 부담이 크다는 단점이 있다. 또한 둘 이상의 미세유체 채널을 같이 결합한 형태로 판매되기 때문에 의도치 않게 칩 소모량이 많아지기도 한다. Polydimethylsiloxane (PDMS)는 산업 분야나 연구 분야에서 다양한 형태의 칩을 제조하는 데 흔히 사용되는 저렴한 재료로써 이를 사용해 단순한 형태의 미세유체칩을 하나씩 제조해 사용할 경우 유체 챔버와 플라스틱 미세유체칩의 단점을 쉽게 극복할 수 있을 것이다. 저자는 혈소판 내피세포 간 결합 관찰을 위한 PDMS 미세유체칩을 제조하였고 이를 실험기법으로 실제 활용할 수 있는지 평가해 보았다.

## 재료 및 방법

### 혈소판 세척 및 혈소판 부유 완충액 제조

정상 건강인으로부터 ACD 항응고제와 혈액의 비가 1:6이 되도록 전혈을 채혈하였다. 이를 원심분리하여 혈소판부혈장을 분리하고 37°C하에 10 분간 배양한 후 다시 원심분리하여 혈소판을 침전시키고 혈장을 제거하였다. 분리한 혈소판을 Tyrode 완충액으로 2회 세척하였다. 세척 후 부유 각 단계마다 프로스타사이클린(prostacyclin, PGI<sub>2</sub>, 0.5  $\mu$ M)을 첨가하여 혈소판 활성화를 방지하였다. 세척을 마친 혈소판은 최종적으로 apyrase (0.2 U/mL)를 함유한 Tyrode 완충액에 부유하고 부유하고 혈소판 수를 300,000/ $\mu$ L가 되도록 희석하였다.

### 미세유체칩의 제조

포토리소그래피를 이용하여 웨이퍼상에 미세유체통로의 규격이 폭 800  $\mu$ m, 깊이 125  $\mu$ m, 길이 28 mm가 되도록 미세유체칩의 몰드를 제작하였다. PDMS와 경화제(curing agent)를 배합하여 혼합물 내 기포를 제거한 후 적당한 두께로 몰드 위에 부은 후 65°C에서 2시간 동안 경화 반응을 진행시켰다. 굳은 PDMS를 몰드로부터 분리하고 실험 및 관찰에 적당한 크기로 절단한 후 미세유체통로 양단에 2개의 개구부를 절개하였다. 가압증기멸균한 미세유체칩과 유리 슬라이드 표면을 세포배양 무균 실험대 내에서 corona treater로 처리한 후 서로 부착하여 미세유체칩을 완성하였다(Fig. 1).

### 미세유체칩 내 내피세포의 배양

미세유체칩 개구부를 통해 멸균 증류수를 주입하여 미세유체통로를 세척한 뒤 콜라젠(0.3-0.75%) 함유 배지를 주입 후 다시 흡입하고 37°C에서 20분간 반응시켜 유리표면을 코팅하였다. 코팅을 마친 후 내피세포배양 배지를 주입하여 37°C에서 30분간 반응시키고  $5 \times 10^6$ /mL로 맞춘 내피세포

포(HUVEC 및 hTERT immortalized dermal microvascular endothelial cell line, TIME, ATCC, USA) 부유 배지 100  $\mu$ L를 주입하였다. 양쪽 개구부에 짧게 절단한 파이펫 팁을 꽂고 배양 기간 동안 배양 배지 저장 용기로 사용하였다. 미세유체칩 내 내피세포를 2일간 배양하여 융합(confluent) 상태가 된 것을 확인하고 1주 내에 미세유체칩 내피세포 혈소판 부착 실험에 사용하였다.

### 미세유체칩 내 혈소판 부유액 관류

내피세포가 융합 상태에 이른 미세유체칩의 배지를 히스타민 함유(150-200  $\mu$ M) 배지로 교환하고 15-30분간 배양하여 내피세포를 활성화시켰다. 히스타민 처리가 끝난 미세유체칩은 현미경 관찰 및 촬영을 위해 도립 광학현미경 스테이지에 거치하고 두 개구부로부터 배지 용기를 제거한 후 주사펌프와 연결된 미세관을 출구 개구부에 혈소판 흡입 미세관을 입구 개구부에 연결하였다. 이 과정에 미세유체통로 내로 기포가 유입되지 않도록 주의한다. 미세유체칩 입구 개구부와 연결된 흡입관을 혈소판 부유액 용기에 담그고 현미경 및 카메라의 동영상 촬영 조건을 설정한 후 펌프를 작동시켜 흡입된 혈소판과 미세유체통로 내 내피세포의 결합을 관찰 촬영하였다. 실험 후 촬영한 동영상으로부터 ULVWF와 혈소판이 결합한 염주상의 선형 구조물을 계수하였다. 염주상 구조물 형성 후 혈청을 첨가한 완충액을 관류하며 단일 시야에서 5분간 염주상 구조물 제거 양상을 관찰 및 촬영하였다. 계수 결과의 정상분포는 Kolmogorov-Smirnov test를 통해 검증하였고 시야당 염주상 구조물 수의 차이는 Mann-Whitney U test를 통해 확인하였다(Medcalc, Belgium).

## 결과

### 미세유체통로 내 내피세포 배양

내피세포 부유 배지를 미세유체통로 내에 주입 후 2일째 융합 상태로 증식하였다. 유체통로 내 내피세포 표면에서 소동맥과 유사한 10 dyne/cm<sup>2</sup>의 전단응력을 얻기 위한 유속은 50  $\mu$ L/min이었다. 미세유체통로 전장에 걸쳐 ULVWF-혈소판 염주상 복합체를 모두 관찰 및 촬영하는 데 3분 7초  $\pm$  50.6초(1분 25초-4분 17초)가 소요되었다. 4-7분 정도의 관찰 시간이 필요한 고전적 유체 챔버 방법에 비해 이는 매우 짧은 시간이다. 미세유체칩 전체 표면의 촬영에 필요한 관찰 시야 수는 10-12개이었다. 한 미세유체칩 실험 당 혈소판부유액 관류(소모)량은 평균  $156 \pm 42$   $\mu$ L (71-214  $\mu$ L)이었으며 이는  $312 \pm 84$   $\mu$ L (142-428  $\mu$ L)의 전혈 채혈량에 해당하는 부피이다. 이를 대조 조건 및 실험 조건하에서 3반복 실험을 위한 혈액 요구량으로 환산하면 1.9 mL (0.9-2.6 mL)가 된다. 이는 유체 챔버를 사용한 실험에서 필요로 하는 혈소판 부유액 (2.5-4 mL), 챔버 및 실험 당 혈액 요구량(6-8 mL, 36-48 mL)과 비교하여 약 20배가량 적은 양이다.

### ULVWF- 혈소판 염주상 구조의 관찰

미세유체통로 내 내피세포를 히스타민으로 처리한 후 혈소판 부유 완충액을 관류시키면 내피세포 표면에 혈소판이 염주상으로 붙어 있는 ULVWF-혈소판 복합체 구조를 관찰할 수 있었다. 내피세포로부터 분리된 ULVWF는 세포 표면에 고정되어 유동 방향과 평행하게 배치되어 있었다. 이러한 구조는 혈소판 부유액을 관류시키는 즉시 관찰할 수 있었으며(Fig. 2A) 혈청 처리를 하지 않을 경우 관찰 시간 동안 동일한 수를 유지하였다. 염주상 구조의 수는 내피세포에 저장 분비되는 VWF의 양에 의해 결정되었다. 내피세포주를 동일한 방법으로 실험에 사용할 경우 HUVEC과 비교하여 유의하게 적은 수의 염주상 구조물을 관찰할 수 있었다(Fig. 2B).

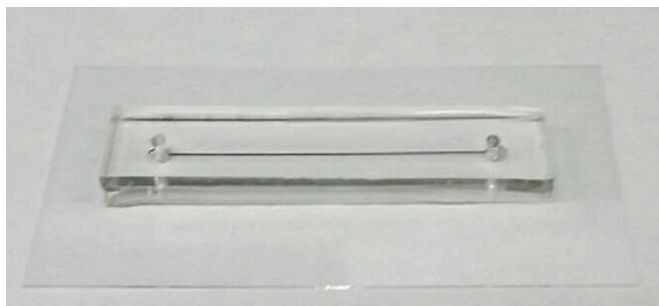
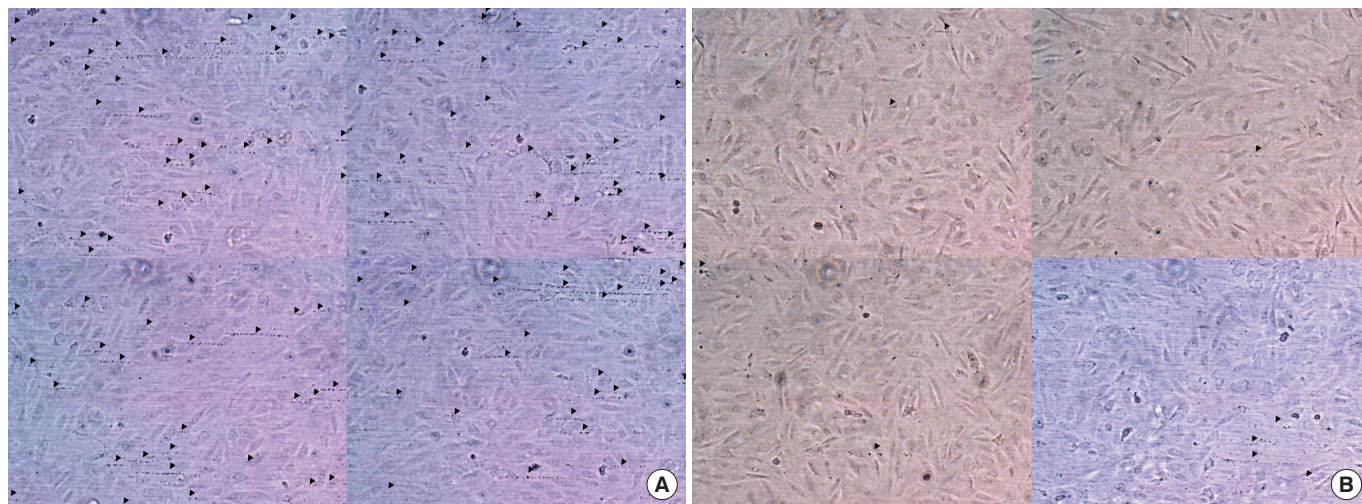
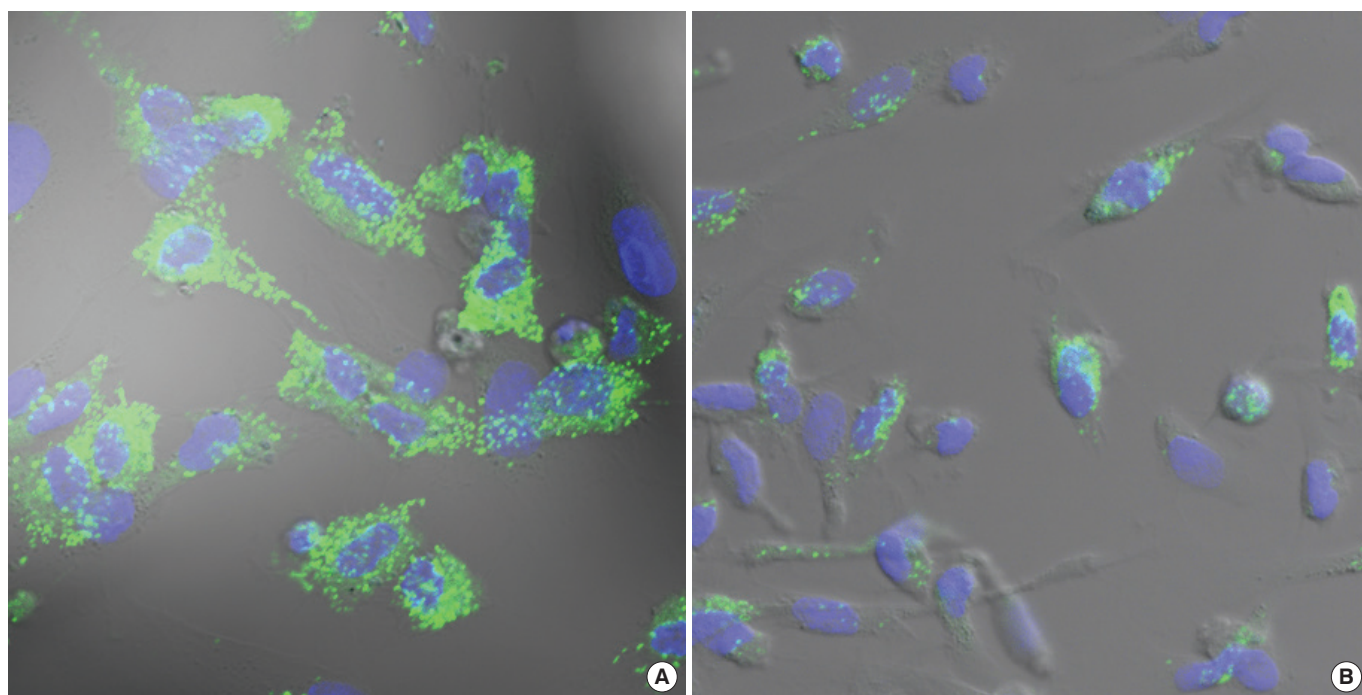


Fig. 1. The microfluidic chip with a straight channel fabricated from PDMS.





**Fig. 2.** (A) Beads on string appearance of platelets attached to ULVWFs on endothelial surface. HUVEC cultured in microfluidic channel were stimulated with histamine and platelet suspension was perfused through the channel. Many ULVWF-platelet complexes assuming beads on string appearances (arrow heads) are present on endothelial surface. (B) An endothelial cell line (TIME) was used in place of HUVEC.



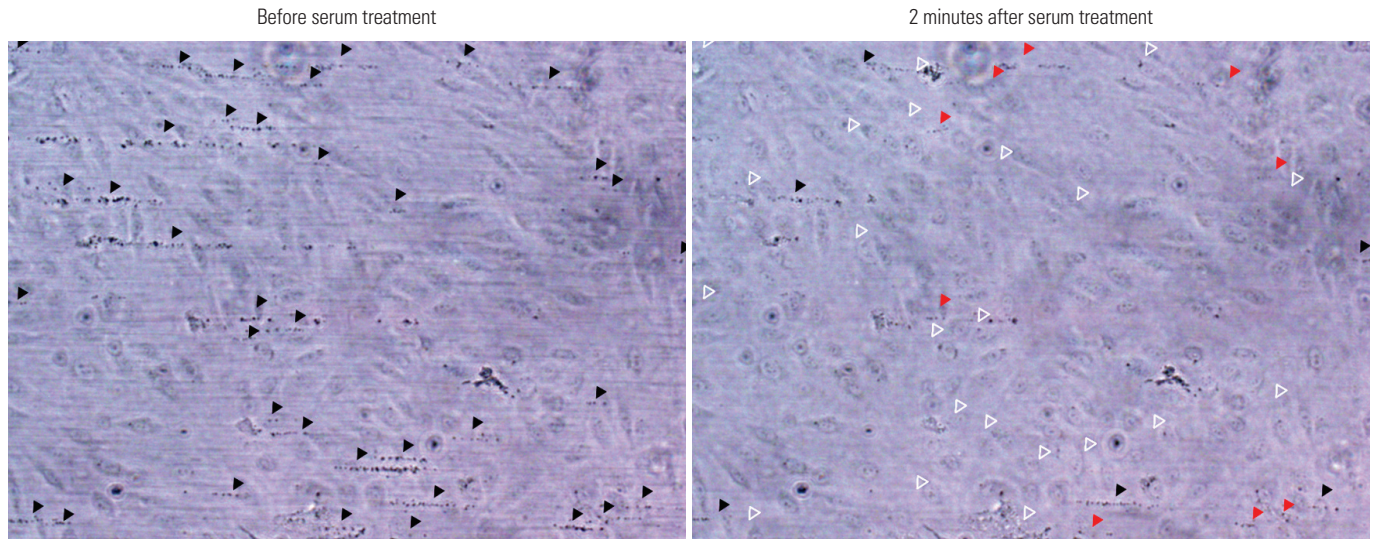
**Fig. 3.** Weibel-Palade bodies in HUVEC and TIME. HUVEC (A) and TIME (B) were stained for VWF and intracellular Weibel-Palade bodies were visualized. HUVEC contains considerably more Weibel-Palade bodies and thus greater amount of VWF.

항 VWF 항체를 사용하여 두 내피세포의 세포질을 염색한 결과 내피세포 주는 HUVEC에 비해 유의하게 적은 수의 Weibel-Palade 소체를 보였다 (Fig. 3). 한 개의 미세유체칩에서 관찰된 염주양 구조의 수는  $182.9 \pm 59.9$  개(mean  $\pm$  SD, 102-305)이었으며 시야 당  $16.3 \pm 5.6$  (10.2-30.5)개의 염주양 구조물이 관찰되었다(Table 1). 히스타민 처리 농도(150 vs. 200  $\mu$ M)나 처리 시간(15 vs. 20분)에 따른 염주양 구조물의 시야 당 수는 유의한 차이를 보이지 않았다.

#### 혈청 ADAMTS13 활성 관찰

완충액에 부유한 혈소판은 내피세포 표면에서 ULVWF-혈소판의 염주양 구조물을 형성하나 동일 완충액으로 희석된 혈청을 관류시킬 경우 형성된 염주양 구조물이 신속하게 절단되기 시작하였으며 5분간 1-2단계에 걸친 절단에 의해 내피세포 표면으로부터 완전히 제거되었다(Fig. 4, Table 2). 금속단백분해효소인 ADAMTS13의 활성을 확인하기 위해 희석 혈청에 EDTA를 첨가할 경우 ULVWF-혈소판 염주양 구조물의 제거가 유의하게 억제되었다.





**Fig. 4.** Elimination ULVWF-platelet complexes by plasma treatment. ULVWF-platelet strings were cleaved by ADAMTS13 contained in plasma and washed away from endothelial surface promptly.

▶ ULVWF-platelet strings initially formed. ▶ Strings showing decrease in length, ▷ Strings eliminated from endothelial surface.

**Table 1.** Observation and counting of ULVWF-platelet string structures

Ser. No.	String number	Number of fields	Mean string number per field	Stimulation, incubation time (miniute)
chip#012	155	11	14.1	Histamine (150 $\mu$ m), 15
chip#017	194	12	16.2	Histamine (150 $\mu$ m), 15
chip#020	208	12	17.3	Histamine (150 $\mu$ m), 15
chip#023	230	12	19.2	Histamine (150 $\mu$ m), 15
chip#026	229	12	19.1	Histamine (150 $\mu$ m), 15
chip#030	144	12	12.0	Histamine (150 $\mu$ m), 15
chip#032	196	12	16.3	Histamine (200 $\mu$ m), 15
chip#034	123	10	12.3	Histamine (200 $\mu$ m), 15
chip#036	102	10	10.2	Histamine (150 $\mu$ m), 15
chip#038	126	10	12.6	Histamine (150 $\mu$ m), 30
chip#040	305	10	30.5	Histamine (150 $\mu$ m), 30

**Table 2.** Proteolytic elimination of ULVWF-platelet string structures by ADAMTS13

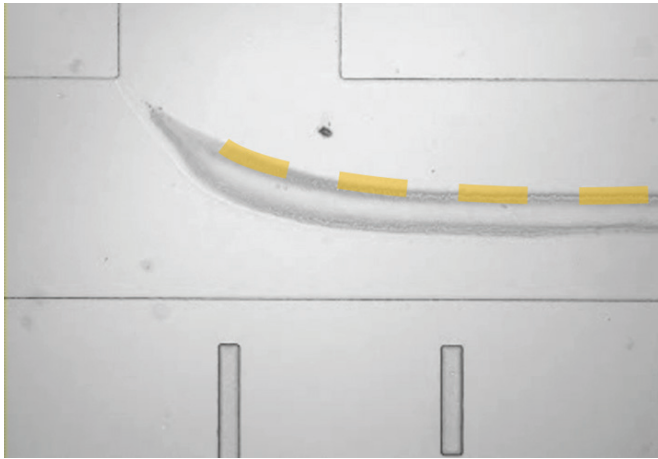
Ser. No.	0 min	2 min	3 min	5 min	Inhibitor
chip#023	24	-	12	4	-
chip#026	28	-	12	5	-
chip#027	10	-	7	7	EDTA
chip#032	12	8	3	1	-
chip#034	10	3	1	0	-
chip#036	10	-	11	6	EDTA
chip#038	5	2	1	1	-
chip#040	37	15	5	0	-

## 고찰

저자는 PDMS 재질의 미세유체칩을 제조하고 내부에 내피세포를 배양하여 미세유체통로 내에서 혈소판과 내피세포의 결합과 유리 과정을 관찰하였다. 내피세포 표면에 형성된 ULVWF-혈소판의 염주양 선형 구조물은, Dong 등이 유체 챔버에서 보고한 염주양 구조와 동일한 형태를 보였다.<sup>5,6</sup> 미세유체통로 전체에서 관찰되는 염주양 구조물의 수는 칩 간에 상당한 차이를 보였다. 염주양 구조물의 수는 미세유체칩 내에 주입하는 내피세포의 수와 배양 기간의 차이, 내피세포의 히스타민 자극 정도 그리고 혈소판 부유 완충액 제조 과정의 변이에 의해 영향을 받을 수 있으며 실험 술기의 표준화 후 재현성에 대한 재평가가 필요할 것으로 생각한다. ADAMTS13을 함유하고 있는 희석 혈청의 관류에 의해 ULVWF가 절단되고 염주양 구조물이 소실되는 현상은 Dong 등이 보고한 바와 동일하였다. 이러한 현상은 혈관과 유사한 조건에서 혈액 ADAMTS13 활성을 측정하는 임상 검사의 개발에 활용될 수 있으며 정적 상태에서 측정하는 기존의

ADAMTS13 활성 검사 방식에 비해 ADAMTS13 기능과 관련된 병태생리를 좀 더 잘 반영할 수 있다. 결과에 제시한 바와 같이 미세유체칩을 사용한 혈소판-내피세포 결합 유리 관찰 기법은 채혈 요구량이 20배가량 적고 실험 소요 시간이 짧으며 실험의 진행이 수월하다는 점에서 기존의 유체 챔버 기법에 비해 우월함을 확인할 수 있었다. 결과에 언급하지 않은 또 다른 장점은 실험 중 미세유체통로 내에 기포 유입이 발생하지 않는다는 사실이다. 유체 챔버 실험은, 조건별 단위 실험 사이 내피세포배양 접시를 교체하는 과정에 연결 관이나 챔버 구석에 기포가 유입되는 경우가 비교적 흔하다. 유체 통로 내로 기포가 유입되어 지나가면 기포와 접촉한 내피세포가 즉시 탈락되는 현상이 발생한다.

혈관벽에 결합된 혈소판은 혈전 및 지혈 질환 모두에 걸쳐 중요한 병태생리적 작용을 한다. 우선 혈소판과 내피세포의 결합은 동맥경화와 같은 염증성 혈관 질환의 발생과 경과에 많은 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 이와 관련된 소견으로 동맥경화가 혈소판이 혈관벽에 붙기 쉬운 위치가 호발하는 경향을 보이며 혈소판-내피세포 결합에 결합(SELP<sup>+</sup>)을 갖고 있는 쥐의 골수를 이식하면 동맥경화 발생이 저하되는 현상이 보고되기도 하였다.<sup>7</sup> 혈관벽에 붙은 혈소판은 과립 내에 저장되어 있는 케모카인을 분비하여 혈액 내 염증세포를 혈관벽으로 유인하는 역할을 한다. 또한



**Fig. 5.** Modification of simple straight channel microfluidic chip enabling sagittal observation of endothelium and matrix interface.

PF4 또는 CD40L과 같이 혈소판 과립이나 세포질에 보관되어 있는 염증 유발물질은 염증세포의 작용을 통하거나 혈관벽 내 지질대사 과정에 직접 작용하여 동맥경화의 발병을 촉진시키는 역할을 한다.<sup>4</sup> 이와 반대로 폰 빌레브란트병(von Willebrand disease, VWD) 환자는 VWF가 결핍되었거나 기능적 결함을 갖고 있어 혈소판 부착이 잘 일어나지 않는다. 기전은 밝혀지지 않았지만 VWD 환자에서 혈관형성이상이 빈번하게 보고되며 최근 VWD 환자에서 분리한 내피세포가 운동성에 이상을 보임이 보고되었다.<sup>8,9</sup> 혈소판과 세포외기질 그리고 내피세포와의 결합을 매개하는 VWF의 결합이 내피세포의 기능이상과 연관되어 있는 것이다. 혈소판 과립에는 다양한 성장 인자들이 보관되어 있고 주변의 자극에 따라 분비되는 사실을 고려하면 내피세포에 부착된 혈소판이 내피세포의 생리적 기능이나 수명에 영향을 미칠 가능성을 배제할 수 없다.<sup>10</sup> 또한 혈소판은 내피전구세포를 혈관벽으로 유인하여 혈관 재생을 유도하는 역할을 하는데

이 과정에 혈소판 부착이 중요한 기능적 요소로 작용한다. 이와 같이 혈소판 - 내피세포 결합 모델은 순환계 질환의 연구에 중요한 요소로 인정받고 있으며 혈소판 - 내피세포 간 결합 유리 양상, 이와 동반된 혈소판과 내피세포의 변화와 그 기전에 대한 연구를 미세유체칩을 활용하여 수월하게 진행할 수 있다.

이 연구에서 소개한 미세유체칩을, 내피세포 표면이 아닌 시상면 관찰을 할 수 있도록 변형할 수 있는데 이를 염증성 출혈 모델 구축 및 기전 연구에 유용한 연구 기법으로 활용할 수 있다(Fig. 5). 최근 백혈구 누출에 의해 생긴 내피세포 간 간격이 염증 유발 출혈의 통로로 작용함이 밝혀졌는데, 조직에 따라 호중구 또는 림프구 누출이 특이적으로 출혈을 유발한다. 피부나 폐조직에 염증을 유발하면 염증 부위에 출혈이 발생하는데 혈액이 누출되는 경로가 호중구가 혈관내벽을 통과하는 부위와 일치한다.<sup>11</sup> 이 출혈 모델에서 혈소판 응집의 주요 경로인 ADP 수용체나 thromboxane A<sub>2</sub> 수용체 그리고 트롬빈 수용체의 활성이 출혈을 막는데 별다른 역할을 하지 않는 반면 혈소판 ITAM 신호전달계(VWF - 혈소판 결합, 콜라겐 - 혈소판 결합) 활성은 출혈을 방지하는 작용을 한다.<sup>12</sup> ITAM 신호전달에 따라 어떤 혈소판 기능이 작용을 하는지 알려진 바가 없지만 림프절 내 림프구 누출에 의한 출혈 동물 모델에서 혈소판이 내피세포에 미치는 영향은 비교적 자세히 보고되었다. 림프구 누출에 의해 생긴 고내피세포맥의 내피세포들 사이의 간격은 세포 간 VE-cadherin 결합에 의해 신속히 메워지는데, VE-cadherin 결합 형성에 혈소판 유래 sphingosine-1-phosphate (S1P)와 내피세포 S1P 수용체 결합에 따른 신호전달이 필요하다.<sup>13</sup> 이 과정에서도 혈소판 응집은 출혈 예방을 위해 별다른 역할을 하지 않는다. 이러한 혈류 내 백혈구의 경내피이동과 혈액 누출 그리고 주변부 내피세포와 혈소판의 상호작용 같은 복잡한 생체 현상을 연구하는 데 있어 미세유체칩을 유용한 체외 실험 모델로 활용할 수 있을 것이다.

## Conflict of Interest

There are no conflicts of interest relevant to this article to report.

## References

- James CF, Jeffrey IW. Overview of Hemostasis and Thrombosis. In: Ronald H, Edward JB, Jr., Leslie ES, et al., eds. Hematology: basic principles and practice. Philadelphia, PA: Elsevier; 2018:1831-42.
- Sadler JE. Pathophysiology of thrombotic thrombocytopenic purpura. Blood. 2017;130:1181-8.
- Interlandi G, Thomas W. The catch bond mechanism between von Willebrand factor and platelet surface receptors investigated by molecular dynamics simulations. Proteins. 2010;78:2506-22.
- Lindemann S, Kramer B, Seizer P, Gawaz M. Platelets, inflammation and atherosclerosis. J Thromb Haemost. 2007;5 Suppl 1:203-11.
- Bernardo A, Ball C, Nolasco L, Moake JF, Dong JF. Effects of inflammatory cytokines on the release and cleavage of the endothelial cell-derived ultralarge von Willebrand factor multimers under flow. Blood. 2004;104:100-6.
- Dong JF, Moake JL, Nolasco L, Bernardo A, Arceneaux W, Shrimpton CN, et al. ADAMTS-13 rapidly cleaves newly secreted ultralarge von Willebrand factor multimers on the endothelial surface under flowing conditions. Blood. 2002;100:4033-9.
- Burger PC, Wagner DD. Platelet P-selectin facilitates atherosclerotic lesion development. Blood. 2003;101:2661-6.
- Groeneveld DJ, van Bekkum T, Dirven RJ, Wang JW, Voorberg J, Reitsma PH, et al. Angiogenic characteristics of blood outgrowth endothelial cells from patients with von Willebrand disease. J Thromb Haemost. 2015;13:1854-66.
- Randi AM. Endothelial dysfunction in von Willebrand disease: angiogenesis and angiodyplasia. Thromb Res. 2016;141 Suppl 2:S55-8.
- Jonnalagadda D, Izu LT, Whiteheart SW. Platelet secretion is kinetically heterogeneous in an agonist-responsive manner. Blood. 2012;120:5209-16.
- Hillgruber C, Poppelmann B, Weishaupt C, Steingraber AK, Wessel F, Berdel WE, et al. Blocking neutrophil diapedesis prevents hemorrhage during thrombocytopenia. J Exp Med. 2015;212:1255-66.
- Boulaftali Y, Hess PR, Getz TM, Cholka A, Stolla M, Mackman N, et al. Platelet ITAM signaling is critical for vascular integrity in inflammation. J Clin Invest. 2013;123:908-16.
- Herzog BH, Fu J, Wilson SJ, Hess PR, Sen A, McDaniel JM, et al. Podoplanin maintains high endothelial venule integrity by interacting with platelet CLEC-2. Nature. 2013;502:105-9.